

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. Februar 2002 (21.02.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/14811 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **G01J 3/28,**
G02B 21/00, G01B 21/16

Alexander [DE/DE]; Ettlinger Strasse 33, 76337 Waldbronn (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/08024

(74) Anwalt: KAISER, Magnus; Postfach 11 08 47, 76058 Karlsruhe (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
17. August 2000 (17.08.2000)

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): MG MICROSCOPE GMBH [DE/DE]; Polytecplatz 1-7, 76337 Waldbronn (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,

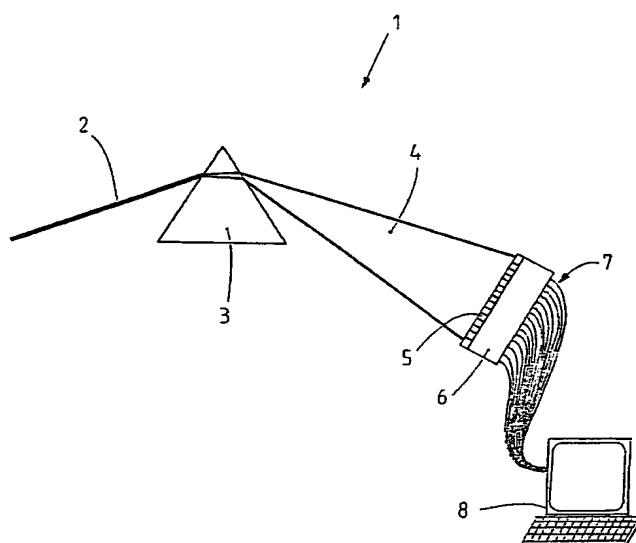
(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DRABENSTEDT,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: LIGHT DETECTOR UNIT AND METHOD FOR DETECTING LUMINESCENCE LIGHT AND CONFOCAL MICROSCOPE FOR LUMINESCENCE MICROSCOPY

(54) Bezeichnung: LICHTERFASSUNGSEINHEIT UND VERFAHREN ZUM ERFASSEN VON LUMINESZENZLICHT SOWIE KONFOKALES MIKROSKOP FÜR DIE LUMINESZENZMIKROSKOPIE



WO 02/14811 A1

(57) Abstract: Disclosed is a light detection unit (1) for a confocal microscope, a method for detecting luminescence light (2) in a confocal microscope, and a confocal microscope. The luminescence light (2) emitted from a measuring object is confocally guided onto a dispersive element (3) through which the luminescence light (2) is dispersed into a spectrum (4). According to the invention, selective ranges within said spectrum (4) are respectively detected by several independently working detector elements (5) which are arranged alongside the spectral distribution. The output signals of the individual detector elements (5) are read out in parallel and are evaluated in a particularly time-correlated manner. Any particular detector elements (5) can be combined in a detection channel, using controlling software.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(57) Zusammenfassung: Es wird eine Lichterfassungseinheit (1) für ein konfokales Mikroskop, ein Verfahren zum Erfassen von Lumineszenzlicht (2) in einem konfokalen Mikroskop sowie ein konfokales Mikroskop selbst vorgeschlagen, wobei das von einem Messobjekt ausgesandte Lumineszenzlicht (2) konfokal auf ein dispersives Element (3) geleitet wird, durch welches das Lumineszenzlicht (2) in ein Spektrum (4) zerlegt wird. Erfindungsgemäß werden jeweils ausgewählte Bereiche dieses Spektrums (4) durch mehrere unabhängig voneinander arbeitende, entlang der Spektralverteilung angeordnete Detektorelemente (5) erfasst, wobei die Ausgangssignale der einzelnen Detektorelemente (5) parallel ausgelesen und insbesondere zeitlich korreliert ausgewertet werden. Ein fallweises Zusammenfassen von beliebigen Detektorelementen (5) in jeweils einen Detektionskanal ist softwaregesteuert möglich.

Lichterfassungseinheit und Verfahren zum Erfassen von Lumineszenzlicht sowie
konfokales Mikroskop für die Lumineszenzmikroskopie

B e s c h r e i b u n g

Die Erfindung betrifft eine Lichterfassungseinheit für die Lumineszenzmikroskopie mit einem konfokalen Mikroskop, ein Verfahren zum Erfassen von Lumineszenzlicht und ein konfokales Mikroskop mit einer solchen Lichterfassungseinheit nach den Oberbegriffen der beigefügten Patentansprüche 1, 10 und 21.

5

Die Lumineszenzmikroskopie macht sich den Lumineszenzeffekt von Objekten, die einen solchen aufweisen, oder von entsprechenden Stoffen, mit denen die zu mikroskopierenden Objekte präpariert werden, zunutze. In der Regel handelt es sich um einen Fluoreszenzeffekt, bei welchem ein Lichtstrahl, in der Regel ein Laserstrahl, als Anregungslicht auf das zu vermessende Objekt gelenkt wird, wo er eine Fluoreszenz stimuliert. Das durch den Fluoreszenzeffekt emittierte Licht des Objekts oder von Teilen desselben hat in der Regel eine vom Anregungslicht verschiedene Wellenlänge, so dass es von rückgestreutem Anregungslicht unterscheidbar ist. In der Fluoreszenzmikroskopie werden meist mehrere Fluoreszenzfarben so in ein Objekt eingebracht, dass die Konzentrationen der einzelnen Farbstoffe die räumliche Verteilung und Konzentration ansonsten nicht sichtbarer Stoffe widerspiegelt. Ein konfokales Mikroskop ermöglicht hierbei, die räumliche Verteilung dieser Mehrfachmarkierungen zu erkennen, indem das Anregungslicht in das Objekt fokussiert wird und das im Fokus des Anregungslights stimulierte und emittierte Fluoreszenzlicht über das Objektiv auf einen Fotodetektor abgebildet wird. So wird ein dreidimensionales Vermessen des Objekts möglich.

Um bei Mehrfachmarkierungen eines Objekts mit mehreren Fluoreszenzfarben die Färbungen unterscheiden zu können, werden Farbstoffe mit verschiedenen Emissionsspektren eingesetzt. Dies bedingt, dass Filter oder dichroitische Spiegel im Strahlengang des Mikroskops bzw. vor dem Detektor angeordnet sein müssen, um die jeweils nicht interessierenden Spektralbereiche auszublenden. Ist also der betreffende fluoreszierende Farbstoff im Fokus des Anregungslights vorhanden, wird

dies am Detektor aufgrund der durch das Filter transmittierten Lichtintensität erkannt.

Anwendung findet die Lumineszenzmikroskopie, insbesondere die Fluoreszenzmikroskopie, beispielsweise in der Biotechnologie, wobei insbesondere Zellen vermessen und verschiedene Zellenbestandteile mit verschiedenen fluoreszierenden Farbstoffen markiert werden. Sowohl beim spektral selektiven Ausblenden durch dichroitische Spiegel als auch bei der selektiven Transmission durch Filter wird die Lichtintensität nachteilig vermindert. Außerdem sind hier die messbaren Spektralbereiche naturgemäß fest vorgegeben, so dass meist eine Mehrzahl von 10 Filtern und/oder Strahlteilern zur Detektion der unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffe vorhanden sein müssen.

Aus der US 5 886 784 ist ein konfokales Mikroskop und eine Lichterfassungseinheit eines solchen bekannt geworden, bei dem diese Nachteile dadurch beseitigt werden, dass das Lumineszenzlicht an einem Prisma spektral zerlegt wird und aus dem erhaltenen Spektrum mittels einer verspiegelten, verfahrbaren Spaltblende nur das interessierende Spektralband ausgeblendet und zum Detektor durchgelassen wird. Das von der Spaltblende reflektierte Licht wird auf einen zweiten Detektor geleitet, der gegebenenfalls mit einer weiteren verspiegelten Spaltblende versehen ist. Die Aufteilung des Lumineszenzlichtes wird also durch spektrales Auffächern desselben und Ausblenden eines Spektralbereichs erzielt. Es liegt auf der Hand, dass das Vorsehen von bewegbaren Spaltblenden zum Ausblenden einzelner Spektralbereiche aus dem spektral zerlegten Lumineszenzlicht eine 25 aufwendige Präzisionsmechanik und eine sehr genaue Justierung erfordern.

Ausgehend von diesem Stand der Technik liegt der Erfindung die Aufgabe zu grunde, eine Lichterfassungseinheit, ein Verfahren zum Erfassen von Lumineszenzlicht und ein konfokales Mikroskop der eingangs genannten Art vorzuschlagen, mit dem die Vermessung eines Messobjekts durch die ortsaufgelöste 30 Detektion von Lumineszenzeffekten schnell und genau, jedoch gleichzeitig mechanisch unaufwendig ermöglicht wird.

Gelöst ist diese Aufgabe durch eine Lichterfassungseinheit für die Lumineszenzmikroskopie mit den Merkmalen des beigefügten Patentanspruchs 1, durch ein konfokales Mikroskop für die Lumineszenzmikroskopie mit den Merkmalen des beigefügten Patentanspruchs 10 sowie durch ein Verfahren zum Erfassen von 5 Lumineszenzlicht mit den Merkmalen des beigefügten Patentanspruchs 21.

Bevorzugte Ausgestaltungen der erfindungsgemäßen Lichterfassungseinheit ergeben sich aus den Ansprüchen 2 bis 9; bevorzugte Weiterbildungen des erfindungsgemäßen konfokalen Mikroskops sind in den Ansprüchen 11 bis 20 niedergelegt. Eine bevorzugte Ausgestaltung des erfindungsgemäßen Verfahrens findet 10 sich in Anspruch 22.

Die erfindungsgemäße Lichterfassungseinheit für die Lumineszenzmikroskopie mit einem konfokalen Mikroskop umfasst also ein dispersives Element zum spektralen 15 Zerlegen des von einem Messobjekt ausgesandten Lumineszenzlichts in ein Spektrum sowie einen Detektor zum Detektieren wenigstens eines Teils des spektral zerlegten Lumineszenzlichts, wobei der Detektor aus einer Mehrzahl von unabhängig voneinander arbeitenden, entlang des Spektrums angeordneten, jeweils 20 einen ausgewählten Bereich des Spektrums erfassenden Detektorelementen besteht, deren jeweilige Ausgangssignale parallel auslesbar und korriktiert auswertbar sind.

Das erfindungsgemäße konfokale Mikroskop für die Lumineszenzmikroskopie umfasst eine Lichtquelle für Anregungslicht, eine Abbildungsoptik zum Fokussieren 25 des Anregungslichts in ein Messobjekt und zum Fokussieren des aus dem Messobjekt ausgesandten Lumineszenzlichts in eine Lichterfassungseinheit, wobei diese Lichterfassungseinheit wie eben beschrieben ausgebildet ist.

Auch das erfindungsgemäße Verfahren zum Erfassen von Lumineszenzlicht unterscheidet sich von den bisher bekannten Verfahren dadurch, dass jeweils ausgewählte Bereiche des spektral zerlegten Lumineszenzlichts durch mehrere unabhängig voneinander arbeitende, entlang der Spektralverteilung angeordnete Detektorelemente detektiert werden, wobei die Ausgangssignale der einzelnen Detektorele-

mente parallel ausgelesen und insbesondere zeitlich korreliert ausgewertet werden.

Erfindungsgemäß wird also primär ein detailliertes Spektrum mit einer Auflösung 5 detektiert, die durch die Anzahl der einzelnen Detektorelemente gegeben ist.

Das parallele Auslesen der Ausgangssignale aller Detektorelemente ermöglicht eine Einordnung des Lumineszenzlichts in unterschiedliche Spektralbereiche innerhalb kürzester Zeit, was für die in der konfokalen Mikroskopie üblichen Scan-Geschwindigkeiten unabdingbar ist. Die durch das parallele Auslesen der Ausgangssignale mögliche gleichzeitige Erfassung der verschiedenen Spektralbänder verhindert auch Messungenauigkeiten, die sich durch die Wellenlängenänderung des emittierten Lichts von Fluoreszenzfarbstoffen ergibt, wenn diese sich in verändlichen Umgebungen befinden, beispielsweise hinsichtlich des pH-Werts. Eine Blende im Strahlengang nach dem dispersiven Element der Lichterfassungseinheit entfällt ganz; folgerichtig kann auch auf eine Präzisionsmimik zur Bewegung der Blende im spektral zerlegten Lumineszenzlicht verzichtet werden.

Gleichzeitig ergeben sich gegenüber dem Stand der Technik, wie er insbesondere 20 in der US 5 886 784 beschrieben ist, weitere erhebliche Vorteile, da, wie nach einer besonders bevorzugten Verfahrensvariante, die Detektorelemente fallweise beliebig zu jeweils einem Detektionskanal zusammengefasst und deren Ausgangssignale jeweils als einheitliches Signal ausgewertet werden können. Nachdem die Auswertung der Ausgangssignale zweckmäßig mit einer elektronischen Datenverarbeitungsanlage erfolgt, ergibt sich so ein Detektor, dessen Auflösung softwaregesteuert konfigurierbar ist, und zwar ohne jede Bewegung oder Umschaltung der einzelnen Detektorelemente. Die erfindungsgemäße Lichterfassungseinheit und das mit dieser ausgerüstete konfokale Mikroskop können also in kürzester Zeit 25 hinsichtlich ihrer spektralen Auflösung und der Anzahl der Kanäle umkonfiguriert werden.

Nicht zuletzt eröffnet sich dadurch auch die Möglichkeit, nicht nur zusammenhängende Teile des Spektrums, sondern beliebige, an unterschiedlichen Stellen des Spektrums sitzende Detektor-Elemente zu einer einheitlich auszuwertenden Gruppe 30

pe und somit zu einem Detektionskanal zusammenzufassen, der beispielsweise genau auf das Emissionsspektrum eines bestimmten Lumineszenzeffektes abgestimmt ist.

5 Der erfindungsgemäß aus einer Mehrzahl von Detektorelementen zusammenge-
setzte Detektor ist vorzugsweise ein Multielement-Detektor, insbesondere ein
Zeilendetektor, mit einer Mehrzahl von nebeneinander angeordneten Detektions-
fenstern und parallel auszulesenden Signalausgängen. Solch ein Detektor kann
beispielsweise ein Multianoden-Photomultiplier sein, aber auch Photodiodenzeilen,
10 Avalanche-Photodioden-Arrays und dergleichen können je nach Anwendung in
Frage kommen.

Das in der Lichterfassungseinheit verwendete disperse Element kann ein Reflek-
tions-Beugungsgitter, ein Transmissions-Beugungsgitter oder auch ein Disper-
15 sionsprisma sein. Das Transmissions-Beugungsgitter hat dabei die höchste Effi-
zienz bei reproduzierbaren Randbedingungen.

Das Lumineszenzlicht ist mitunter nur sehr schwach, so dass es vorteilhaft sein
kann, wenn dem Detektor der Lichterfassungseinheit ein Bildverstärker zugeordnet
20 wird.

Um die Totbereiche zwischen den einzelnen Detektorelementen zu eliminieren,
können den einzelnen Detektorelementen Linsen- oder Prismenelemente vorge-
schaltet sein. Ein Multielement-Detektor kann beispielsweise mit einem Mikro-
25 linsen-Array abgedeckt werden, das das Auftreffen des spektral zerlegten Lumi-
neszenzlichts auf die Zentren der Detektorelemente optimiert und Totbereiche
zwischen den einzelnen Fenstern des Multielement-Detektors verhindert.

Das konfokale Mikroskop nach der Erfindung kann durch die eben beschriebenen
30 Weiterbildungen der erfindungsgemäßen Lichterfassungseinheit ebenso vorteilhaft
ausgestaltet werden.

Eine besonders bevorzugte weitere Ausgestaltung des erfindungsgemäßen kon-
fokalen Mikroskops zeichnet sich dadurch aus, dass das disperse Element der

Lichterfassungseinheit auch "rückwärts" benutzt werden kann und infolgedessen auch das Anregungslight über das dispersive Element der Lichterfassungseinheit in die Abbildungsoptik einkoppelbar ist. Eine solche Einkopplung des Anregungslights über das dispersive Element ist selbstverständlich unabhängig davon, ob nur ein herkömmlicher Detektor oder ein erfindungsgemäß aus mehreren Detektorelementen zusammengesetzter Detektor verwendet wird. Da die Anregung insbesondere von fluoreszierenden Farbstoffen generell mit einer Wellenlänge erfolgt, die kleiner als die Emissionswellenlängen ist, und zwar typischerweise 10 bis 50 nm, kann die das Anregungslight aussendende Lichtquelle neben dem zugehörigen Photodetektor angeordnet oder dort eingekoppelt werden, da der Anregungslight-Wellenlängenbereich durch die spektrale Zerlegung ebenfalls neben dem zu detektierenden Wellenlängenbereich liegt. Je nach Anwendungsfall kann es auch vorteilhaft sein, die Lichtquelle zwischen den Detektorelementen anzurorden oder dort einzuspiegeln.

15

Durch diese bevorzugte Ausgestaltung der Erfindung spart man sich den bei konfokalen Mikroskopen bislang obligatorischen Strahlteiler, was vor allem dann enorme Vorteile bringt, wenn mehrere Fluoreszenzfarbstoffe mit relativ weit auseinanderliegenden Emissionsspektren verwendet werden: Die Absorptionsspektren der Farbstoffe sind in der Regel nicht breiter als die Emissionsspektren, so dass für mehrfach markierte Präparate mehrere getrennte Wellenlängenbereiche vom Anregungslight überdeckt werden müssen, was meist nur durch mehrere Anregungslightquellen erzielbar ist. Bislang mussten in diesem Fall sogar mehrere Anregungsstrahlteiler im konfokalen Mikroskop vorhanden sein, was durch das Einkoppeln der Anregungslightwellenlängen über das dispersive Element vollständig obsolet wird.

20

Drei Ausführungsbeispiele der Erfindung werden im Folgenden anhand der beigefügten Zeichnungen näher beschrieben und erläutert. Es zeigen:

25

Figur 1 eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Lichterfassungseinheit;

Figur 2 eine schematische Darstellung eines erfindungsgemäßen konfokalen Mikroskops;

Figur 3 eine schematische Darstellung einer anders ausgebildeten erfindungsgemäßen Lichterfassungseinheit.

Figur 1 zeigt ein Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Lichterfassungseinheit für ein konfokales Mikroskop in einer schematischen Darstellung der wesentlichen Elemente: Ein Strahl aus Lumineszenzlicht 2 vom Objekt wird in einem als Prisma ausgebildeten dispersiven Element 3 in ein Spektrum 4 zerlegt und auf ein Feld von zeilenartig nebeneinander angeordneten Detektorelementen 5 eines als Multianoden-Photomultipliers ausgebildeten Detektors 6 abgebildet. Die Anoden der einzelnen Detektorelemente 5 werden über einen parallel auslesbaren Anschluss 7 mit einer (hier nicht sichtbaren) analogen Elektronikeinheit verbunden. Diese Elektronikeinheit wird von einem Computer 8 angesteuert. Mittels dieses Computers 8 ist es möglich, einzelne oder Teilfelder der Detektorelemente 5 zu gemeinsam auszuwertenden Gruppen, also zu Detektorkanälen zusammenzufassen. Werden diese zusammengefassten Gruppen von Detektorelementen 5 den zu erwartenden Emissionsspektren des Lumineszenzlichts 2 angepasst, ergibt sich neben der großen Flexibilität in der Detektorkonfiguration und Auflösung auch eine optimale Lichtausbeute des Lumineszenzlichts 2. Der Ausgang der analogen Elektronikeinheit liefert dann mehrere zusammengefasste Detektorsignale, die im Computer 8 weiterverarbeitet werden.

Figur 2 zeigt ebenfalls in schematischer Darstellung eine wie in Figur 1 aufgebaute Lichterfassungseinheit 1 als Bestandteil eines konfokalen Mikroskops. Das aus der als Laser ausgebildeten Lichtquelle 9 ausgesandte Anregungslicht 10 wird über eine Aufweitungsoptik 11, eine erste Lochblende 12 und einen Strahlteiler 13 über eine Abbildungsoptik 14 auf einen Fokus in einer Objektebene 15 fokussiert, wo er in einem (hier nicht dargestellten) Objekt eine Photo-Lumineszenz anregt. Das hierbei ausgesandte Lumineszenzlicht 2 wird über eine Abbildungsoptik 14 nach Spiegelung am Strahlteiler 13 auf die Lichterfassungseinheit 1 abgebildet, wo es eine konfokale Lochblende 16 und eine Strahlformungsoptik 17 passiert, um danach im dispersiven Element 3 in ein von den Detektorelementen 5 des Detektors 6 zu erfassendes Spektrum 4 zerlegt wird. Das Auslesen und Auswerten der Ausgangssignale der einzelnen Detektorelemente 5 erfolgt wie anhand Figur 1 beschrieben.

Figur 3 zeigt wiederum eine schematische Darstellung einer Lichterfassungseinheit 1, wobei sich diese von der in Figur 1 dargestellten Lichterfassungseinheit 1 dadurch unterscheidet, dass neben dem Detektor 6 die Lichtquelle 9 für Anregungslicht 10, also der Laser, des konfokalen Mikroskops angeordnet ist. Das dispersive Element 3 wird also "vorwärts" durch das Anregungslicht 10 und "rückwärts" durch das Lumineszenzlicht 2 durchlaufen. Zwischen dem dispersiven Element 3 und der Objektebene 15 des (hier nicht dargestellten) konfokalen Mikroskops durchlaufen das Anregungslicht 10 und das Lumineszenzlicht 2 identische Lichtwege; sie besitzen lediglich unterschiedliche Wellenlängen (durch die Frequenzverschiebung des Lumineszenzeffekts, insbesondere Fluoreszenzeffekts), so dass das Anregungslicht 10 eine andere Farbe und somit einen anderen Ort im Spektrum 4 einnimmt, als das Lumineszenzlicht 2. Es ist offensichtlich, dass durch diese Ausbildung der Lichterfassungseinheit 1 eines konfokalen Mikroskops der Strahlteiler 13 des Mikroskops ersatzlos entfallen kann.

Bezugszeichenliste

- 1 Lichterfassungseinheit
- 2 Lumineszenzlicht
- 3 dispersives Element
- 4 Spektrum
- 5 Detektorelemente
- 6 Detektor
- 7 Anschluss
- 8 Computer
- 9 Lichtquelle
- 10 Anregungslicht
- 11 Aufweitungsoptik
- 12 Lochblende
- 13 Strahlteiler
- 14 Objektiv
- 15 Objektebene
- 16 konfokale Lochblende
- 17 Strahlformungsoptik

Patentansprüche

1. Lichterfassungseinheit für die Lumineszenzmikroskopie mit einem konfokalen Mikroskop, umfassend ein dispersives Element (3) zum spektralen Zerlegen des von einem Messobjekt ausgesandten Lumineszenzlichts (2) in ein Spektrum (4) sowie einen Detektor (6) zum Detektieren wenigstens eines Teiles des spektral zerlegten Lumineszenzlichts (2), dadurch gekennzeichnet, dass der Detektor (6) aus einer Mehrzahl von unabhängig voneinander arbeitenden, entlang des Spektrums (4) angeordneten, jeweils einen ausgewählten Bereich des Spektrums (4) erfassenden Detektorelementen (5) besteht, deren jeweilige Ausgangssignale parallel auslesbar und korreliert auswertbar sind.

10

2. Lichterfassungseinheit nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Detektor (6) ein Multielement-Detektor, insbesondere Zeilendetektor, mit einer Mehrzahl von nebeneinander angeordneten Detektionsfenstern und einem parallel auslesbaren Anschluss (7) für die Ausgangssignale ist.

15
3. Lichterfassungseinheit nach Anspruch 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Detektor (6) ein Multianoden-Photomultiplier ist.

20

4. Lichterfassungseinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass die einzelnen Detektorelemente (5) je nach Anwendungsfall gruppenweise zusammengefasst auswertbar sind.

25

5. Lichterfassungseinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass das dispersive Element (3) ein Reflektions-Beugungsgitter ist.

6. Lichterfassungseinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass das dispersive Element (3) ein Transmissions-Beugungsgitter ist.

5

7. Lichterfassungseinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass das dispersive Element (3) ein Dispersionsprisma ist.

10 8. Lichterfassungseinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet,
dass dem Detektor (6) ein Bildverstärker zugeordnet ist.

15 9. Lichterfassungseinheit nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
dadurch gekennzeichnet,
dass den einzelnen Detektorelementen (5) Linsen- oder Prismenelemente vorge-
schaltet sind.

20 10. Konfokales Mikroskop für die Lumineszenzmikroskopie, mit einer Lichtquelle
(9) für Anregungslicht (10), einer Abbildungsoptik (14) zum Fokussieren des Anre-
gungslichtes (10) in ein Messobjekt und zum Fokussieren des aus dem Messobjekt
ausgesandten Lumineszenzlichtes (2) in eine Lichterfassungseinheit (1), welche
ein dispersives Element (3) zum spektralen Zerlegen des Lumineszenzlichts (2) in
ein Spektrum (4) sowie einen Detektor (6) zum Detektieren wenigstens eines Teils
25 des spektral zerlegten Lumineszenzlichts (2) enthält,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Detektor (6) aus einer Mehrzahl von unabhängig voneinander arbeiten-
den, entlang des Spektrums (4) angeordneten, jeweils einen ausgewählten Bereich
des Spektrums (4) erfassenden Detektorelementen (5) besteht, deren jeweilige
30 Ausgangssignale parallel auslesbar und korreliert auswertbar sind.

11. Konfokales Mikroskop nach Anspruch 10,
dadurch gekennzeichnet,
dass das Anregungslicht (10) über das disulative Element (3) der Lichterfas-
5 sungseinheit (1) in die Abbildungsoptik (14) einkoppelbar ist.
12. Konfokales Mikroskop nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet,
dass die Lichtquelle (9) für das Anregungslicht (10) neben oder zwischen den De-
10 tektorelementen (5) der Lichterfassungseinheit (1) angeordnet ist.
13. Konfokales Mikroskop nach einem der Ansprüche 10 bis 12,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Detektor (6) der Lichterfassungseinheit (1) ein Multielement-Detektor,
15 insbesondere Zeilendetektor, mit einer Mehrzahl von nebeneinander angeordneten
Detektionsfenstern und einem parallel auslesbaren Anschluss (7) für die Aus-
gangssignale ist.
14. Konfokales Mikroskop nach Anspruch 13,
20 dadurch gekennzeichnet,
dass der Detektor (6) der Lichterfassungseinheit (1) ein Multianoden-Photomulti-
plier ist.
15. Konfokales Mikroskop nach einem der Ansprüche 10 bis 14,
25 dadurch gekennzeichnet,
dass die einzelnen Detektorelemente (5) der Lichterfassungseinheit (1) je nach
Anwendungsfall gruppenweise zusammengefasst auswertbar sind.
16. Konfokales Mikroskop nach einem der Ansprüche 10 bis 15,
30 dadurch gekennzeichnet,
dass das disulsive Element (3) der Lichterfassungseinheit (1) ein Reflektions-
Beugungsgitter ist.

17. Konfokales Mikroskop nach einem der Ansprüche 10 bis 15,
dadurch gekennzeichnet,
dass das dispersive Element (3) der Lichterfassungseinheit (1) ein Transmissions-
5 Beugungsgitter ist.
18. Konfokales Mikroskop nach einem der Ansprüche 10 bis 15,
dadurch gekennzeichnet,
dass das dispersive Element (3) der Lichterfassungseinheit (1) ein Dispersions-
10 prisma ist.
19. Konfokales Mikroskop nach einem der Ansprüche 10 bis 18,
dadurch gekennzeichnet,
dass dem Detektor (6) der Lichterfassungseinheit (1) ein Bildverstärker zugeordnet
15 ist.
20. Konfokales Mikroskop nach einem der Ansprüche 10 bis 19,
dadurch gekennzeichnet,
dass den einzelnen Detektorelementen (5) der Lichterfassungseinheit (1) Linsen-
20 oder Prismenelemente vorgeschaltet sind.
21. Verfahren zum Erfassen von Lumineszenzlicht eines in einem konfokalen
Mikroskop zu vermessenden Messobjekts, wobei das Anregungslicht einer Licht-
quelle in das Messobjekt fokussiert und das aus dem Messobjekt ausgesandte
25 Lumineszenzlicht konfokal auf ein dispersives Element geleitet wird, durch welches
das Lumineszenzlicht in ein Spektrum zerlegt wird,
dadurch gekennzeichnet,
dass jeweils ausgewählte Bereiche des Spektrums durch mehrere unabhängig
voneinander arbeitende, entlang der Spektralverteilung angeordnete Detektorele-
30 mente detektiert werden, wobei die Ausgangssignale der einzelnen Detektorele-
mente parallel ausgelernt und korreliert ausgewertet werden.

22. Verfahren nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet,
dass fallweise beliebige Detektorelemente zu jeweils einem Detektionskanal zu-
5 sammengefasst und deren Ausgangssignale jeweils als einheitliches Signal aus-
gewertet werden.

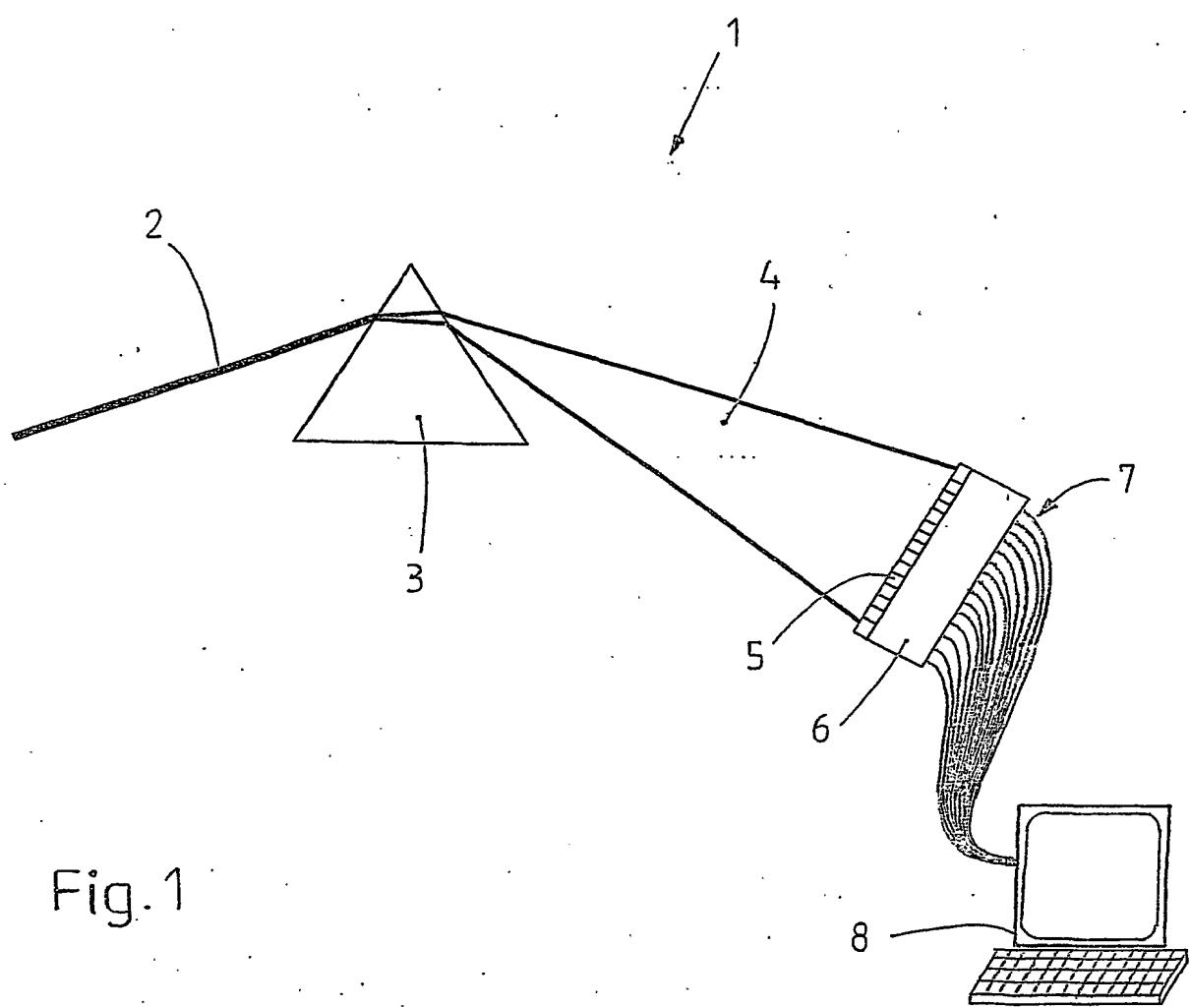


Fig. 1

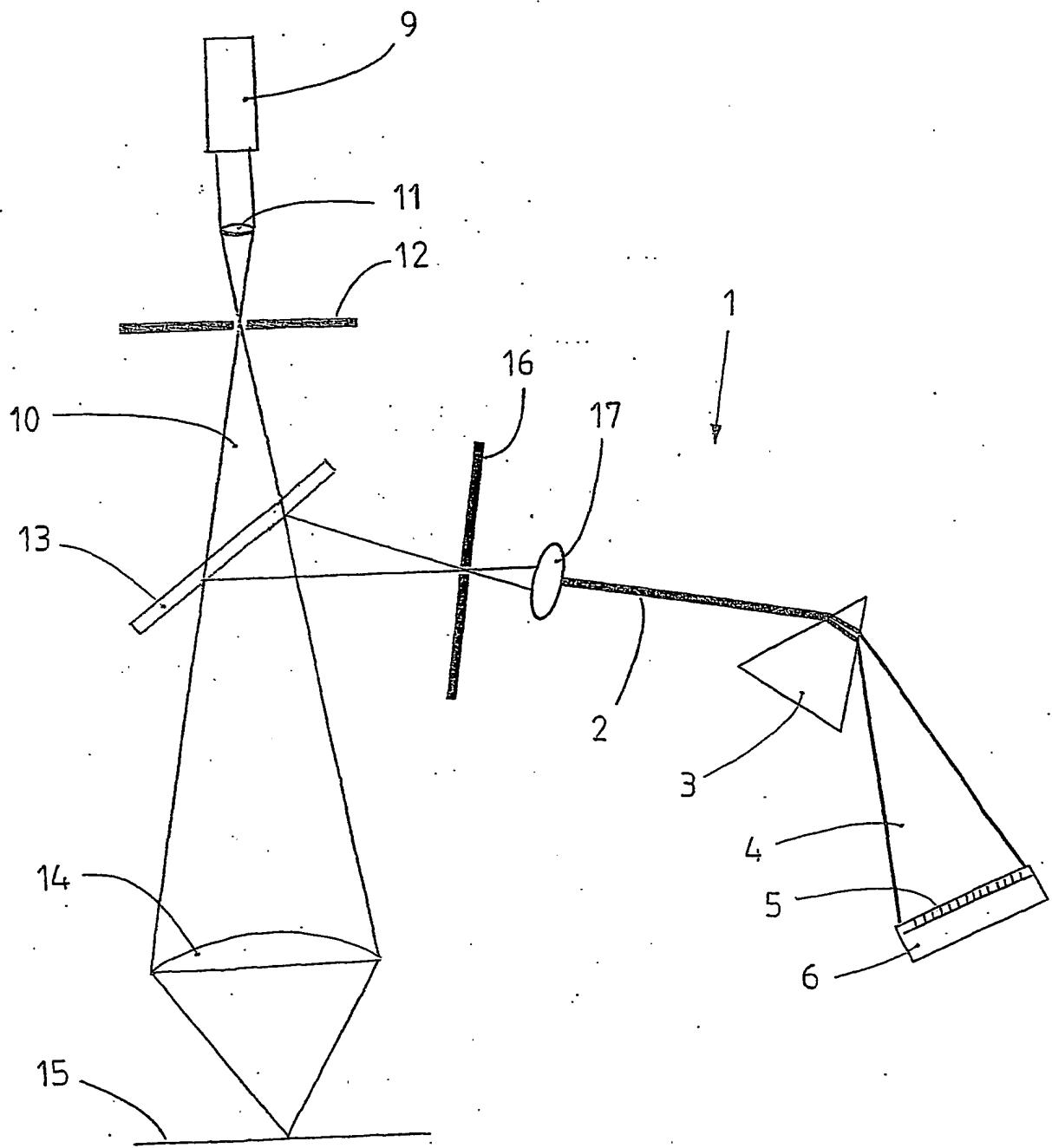


Fig. 2

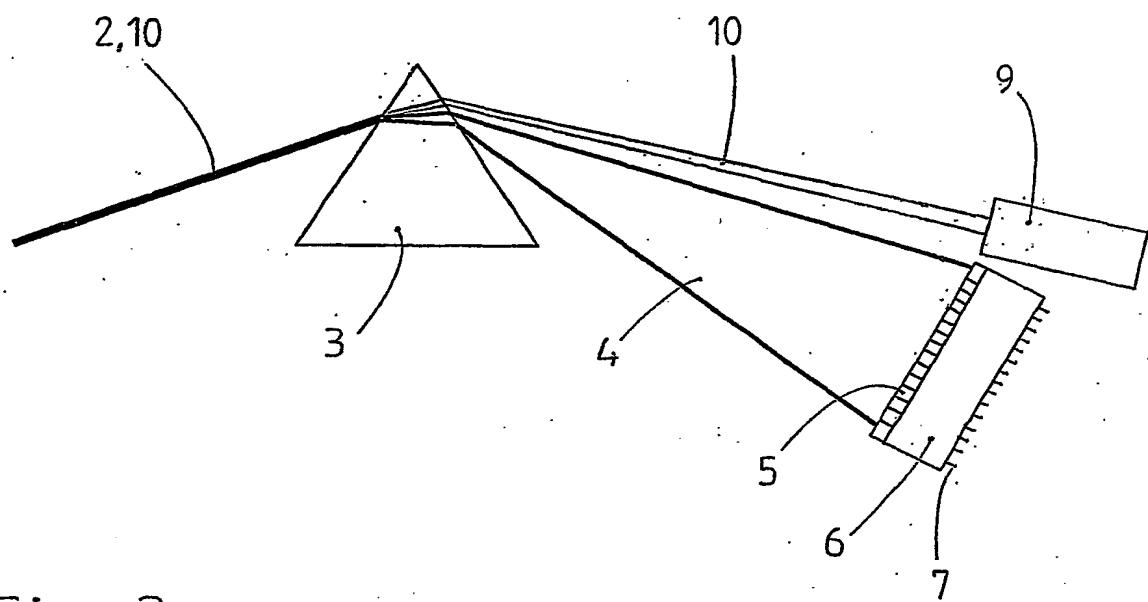


Fig. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/EP 00/08024

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G01J3/28 G02B21/00 G01B21/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01J G02B G01B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GB 2 344 014 A (MEDICAL RES COUNCIL) 24 May 2000 (2000-05-24) page 2, paragraph 3 -page 7, paragraph 2 ---	1-22
Y	US 5 923 466 A (KRAUSE ANDREW W ET AL) 13 July 1999 (1999-07-13) column 6, line 65 -column 7, line 17 ---	1-22
A	GB 1 537 933 A (KOLLMORGEN TECH CORP) 10 January 1979 (1979-01-10) page 1, line 30 - line 90 page 2, line 78 - line 114 ---	1-22
A	DE 199 02 625 A (LEICA MICROSYSTEMS HEIDELBERG) 30 September 1999 (1999-09-30) the whole document ---	1-22 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 May 2001

Date of mailing of the international search report

28/05/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Jacquin, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational Application No
PCT/EP 00/08024**C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 859 700 A (YANG MARY M) 12 January 1999 (1999-01-12) column 17, line 24 – line 46 -----	1,2,13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int'l	Final Application No
PCT/EP 00/08024	

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
GB 2344014	A	24-05-2000		AU 4923099 A WO 0031577 A		13-06-2000 02-06-2000
US 5923466	A	13-07-1999		AU 5603198 A EP 0948754 A WO 9828655 A		17-07-1998 13-10-1999 02-07-1998
GB 1537933	A	10-01-1979		CH 618266 A DE 2740724 A FR 2364437 A JP 1403506 C JP 53052183 A JP 62008729 B		15-07-1980 16-03-1978 07-04-1978 09-10-1987 12-05-1978 24-02-1987
DE 19902625	A	30-09-1999		WO 9939231 A EP 1053497 A		05-08-1999 22-11-2000
US 5859700	A	12-01-1999		US 6160617 A		12-12-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inl. nationales Aktenzeichen
PCT/EP 00/08024

A. Klassifizierung des Anmeldungsgegenstandes
IPK 7 G01J3/28 G02B21/00 G01B21/16

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G01J G02B G01B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	GB 2 344 014 A (MEDICAL RES COUNCIL) 24. Mai 2000 (2000-05-24) Seite 2, Absatz 3 -Seite 7, Absatz 2 ---	1-22
Y	US 5 923 466 A (KRAUSE ANDREW W ET AL) 13. Juli 1999 (1999-07-13) Spalte 6, Zeile 65 -Spalte 7, Zeile 17 ---	1-22
A	GB 1 537 933 A (KOLLMORGEN TECH CORP) 10. Januar 1979 (1979-01-10) Seite 1, Zeile 30 - Zeile 90 Seite 2, Zeile 78 - Zeile 114 ---	1-22
A	DE 199 02 625 A (LEICA MICROSYSTEMS HEIDELBERG) 30. September 1999 (1999-09-30) das ganze Dokument ---	1-22
		-/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- *'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *'E' älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *'C' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- *'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- *'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- *'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist
- *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Mai 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

28/05/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Jacquin, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHTInternationales Aktenzeichen
PCT/EP 00/08024**C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 859 700 A (YANG MARY M) 12. Januar 1999 (1999-01-12) Spalte 17, Zeile 24 – Zeile 46 -----	1, 2, 13

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur seinen Patentfamilie gehören

Inte	tales Aktenzeichen
PCT/EP 00/08024	

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
GB 2344014	A	24-05-2000	AU	4923099 A	13-06-2000
			WO	0031577 A	02-06-2000
US 5923466	A	13-07-1999	AU	5603198 A	17-07-1998
			EP	0948754 A	13-10-1999
			WO	9828655 A	02-07-1998
GB 1537933	A	10-01-1979	CH	618266 A	15-07-1980
			DE	2740724 A	16-03-1978
			FR	2364437 A	07-04-1978
			JP	1403506 C	09-10-1987
			JP	53052183 A	12-05-1978
			JP	62008729 B	24-02-1987
DE 19902625	A	30-09-1999	WO	9939231 A	05-08-1999
			EP	1053497 A	22-11-2000
US 5859700	A	12-01-1999	US	6160617 A	12-12-2000